

Cellular auto-immunity in central nervous system disease

Citation for published version (APA):

Weber, W. E. J. (1988). *Cellular auto-immunity in central nervous system disease*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19881007ww>

Document status and date:

Published: 01/01/1988

DOI:

[10.26481/dis.19881007ww](https://doi.org/10.26481/dis.19881007ww)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Chapter 10

Summary

Multiple Sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system (CNS), with fluctuating clinical signs of demyelination and sclerotic lesions at more than two distinct sites in the white matter. The etiology and pathogenesis of this disorder, which may lead to rapid, severe debilitation of relatively young patients, still remains obscure. Moreover, an effective therapy is not available so far. However, evidence has accumulated that environmental, genetic, and immunological factors are involved in the pathogenesis of MS.

Current hypotheses on the pathogenesis and therapy, based on recent research progress in MS and the relevant animal models, are reviewed in Chapter 1. Based on these data the most favoured hypothesis on the pathogenesis of MS includes a crucial role for T lymphocyte-mediated auto-immunity.

As pointed out in Chapter 2, the aim of this work was to study the possible role of T lymphocytes in the pathogenesis of Multiple Sclerosis. This was done at three separate levels : by frequency analysis of functionally active T lymphocytes in the CSF, by identifying characteristics of the human T lymphocytemediated immune response against MBP, and by studying crossreactions between T lymphocytes and cells of the neural system.

In Chapter 3 the development of a sensitive T lymphocyte microculture system is described, allowing expansion of virtually every human T cell into a clonal progeny of 5 to 40×10^4 cells in 14 to 18 days culture. Frequencies of cells in the human peripheral blood T cell compartment giving rise to a clonal progeny expressing CTL function was $1/3$, whereas $1/6$ to $1/5$ expanded into effector cell populations possessing NK activity. Frequency analysis of CD4-positive and CD8-positive populations, demonstrated that 1 to 6% of the CD4-positive and 100% of the CD8-positive peripheral blood T lymphocytes expanded into CTL.

As described in Chapter 4, the microculture system was used to assess frequencies of Cytolytic T Lymphocyte precursors (CTL-p) and Natural Killer precursors (NK-p) in the CSF of 15 MS patients and 11 patients with other neurologic disorders (OND). CSF CTL-p and NK-p frequencies were higher in patients with OND of inflammatory nature than in patients with non-inflammatory OND. In all MS patients, these frequencies were higher in the CSF than in their peripheral blood. Surprisingly, in all patients studied, the CSF contained a substantial number of CTL-p with a helper (CD4+) phenotype.

In Chapter 5 the isolation and characterization of stable long-term human T lymphocyte clones specific for Myelin Basic Protein (MBP), is described. Isolation of these clones appeared only possible by seeding peripheral blood mononuclear cells

into a limiting dilution microculture system. All clones were of the CD4+ phenotype. The majority was capable of MBP-specific cytotoxicity, tested with ⁵¹Chromium-labelled autologous Epstein Barr virus (EBV)-transformed B cells, pulsed with MBP, as targets. A few other clones had Natural Killer (NK) function. All clones produced Interleukin 2 (IL2) upon adequate stimulation.

Chapter 6 is a description of the HLA-restriction patterns of the human MBP-specific CD4+ CTL clones. Using monoclonal antibodies against various HLA gene products and allogeneic EBV-transformed B cells as antigen-presenting cells and as targets for cytotoxicity, it was demonstrated that function of the T cell clones was restricted by HLA class II antigens, and more specifically, by molecules encoded for by DR locus genes.

In Chapter 7 the in vitro effects of Cyclosporin A, Prednisolone, and anti-CD4 monoclonal antibody WW.T4 on MBP-specific human CD4+ cytotoxic T lymphocyte clones are described. Prednisolone affected secretion of Interleukin 2 and Interferon- γ by the clones, while it did not influence cytotoxic properties. In contrast both CsA and WW.T4 blocked all tested antigen-specific functions of the auto-immune Myelin Basic Protein-specific human T cell clones.

Antibody-crossreactivity between MBP and CD3 antigen on T cells, as recognized by a murine monoclonal antibody, WW.B1 is reported in Chapter 8. The WW.B1 MAb was originally raised against human MBP and appeared to bind to the CD3 antigen of T cells and had profound effects on T cell function, including induction of proliferation and induction of non-specific cytotoxicity.

The experimental data are discussed in Chapter 9, in relation to important literature data. The similarity of characteristics between the human cellular immune response against MBP and the encephalitogenic cellular anti-MBP response in experimental animals is discussed. The possible importance of the cross-reaction between MBP and CD3 as a mechanism of non-specific immune response within the CNS is stressed.

Samenvatting

Multipale Sclerose (MS) is een chronische inflammatoire aandoening van het Centraal Zenuw Stelsel, gekenmerkt door fluctuerende klinische uitingen van demyeliniserende en sclerotische lesies op meer dan twee verschillende locaties in de witte stof. De etiologie en pathogenese van de aandoening, die tot snelle, ernstige, invalidering van relatief jonge mensen kan leiden, is onbekend. Een effectieve behandeling is nog niet beschikbaar. Er zijn echter aanwijzingen dat omgevings-, erfelijke en immunologische factoren een rol spelen in de pathogenese.

Moderne hypothesen omtrent pathogenese en behandeling, gebaseerd op recente vooruitgang in onderzoek naar MS en de erbij behorende diermodellen, worden besproken in Hoofdstuk 1. Gebaseerd op deze gegevens is momenteel de hypothese, die in de pathogenese een cruciale rol postuleert voor de T lymphocytemedieerde auto-immuniteit, het meest populair.

Zoals uitgelegd in Hoofdstuk 2, was het doel van de studie beschreven in dit proefschrift, om de rol van interacties tussen T lymphocyten en het Centrale Zenuwstelsel als mogelijke mechanismen in de pathogenese van MS te bestuderen. Dit werd op drie niveaus gedaan : door frequentie analyse van functioneel actieve T cellen in de liquor cerebrospinalis, door studie van de kenmerken van de humane cellulaire immunrespons tegen Myelin Basic Protein (MBP), en door bestudering van immunologische kruisreacties tussen T lymphocyten en cellen van het neurale systeem. Hoofdstuk 3 is een beschrijving van de ontwikkeling van een gevoelig T cel microcultuur-systeem, dat zorgt voor klonale expansie van zo goed als elke humane T lymphocyt tot een populatie van 5 tot 40×10^4 cellen in 14 tot 18 dagen. Frequenties van cellen in het normale humane perifere bloed die uitgroeien tot een populatie met CTL effector functie lagen rond 1/3, terwijl ongeveer 1/6 tot 1/5 uitgroeide tot een kloon met NK activiteit. Frequentie analyse van CD4+ en CD8+ cellen toonde aan, dat 1-6 % van de CD4+ en 100 % van de CD8+ cellen expandeerden en differentieerden tot een CTL effector populatie.

In Hoofdstuk 4 wordt het gebruik van het microcultuursysteem beschreven om frequenties van CTL-precursors en NK-precursors te bepalen in de liquor cerebrospinalis en perifere bloed van 15 MS patienten en 11 patienten met andere neurologische aandoeningen. Frequenties van CTL-p en NK-p in de liquor waren hoger in patienten met een inflammatoire aandoening dan in patienten met een niet-inflammatoire aandoening. In alle MS patienten waren genoemde frequenties hoger in de liquor cerebrospinalis dan in het perifere bloed. Van alle bestudeerde patienten bleek de liquor cerebrospinalis een verrassend hoog percentage CD4+ CTL-p te bevatten. In Hoofdstuk 5 wordt de isolatie en karakterisering van MBP-specifieke T lymphocyt klonen uit het perifere bloed van MS patienten beschreven. De isolatie hiervan bleek alleen mogelijk na toepassing van een 'limiting dilution' microcultuur-systeem. Alle klonen waren van het CD4+ phenotype. De meeste klonen waren in staat tot MBP-specifieke cytolyse, getest met $^{51}\text{Chroom}$ gelabelde 'MBP-pulsed' autologe EBV-getransformeerde B cellen. Een aantal had NK functie. Alle klonen produceerden IL2 na adequate stimulatie.

Het HLA restrictie patroon van de humane CD4 + CTL klonen wordt in Hoofdstuk 6 beschreven. Met monoklonale antistoffen tegen diverse HLA determinanten en met allogene EBV-getransformeerde B cellen als antigeen-presenterende cellen en als 'targets' voor cytolyse, werd aangetoond dat de MBP-specifieke klonen functioneel beperkt werden door HLA Klasse II gen-producten, meer precies door DR moleculen.

In Hoofdstuk 7 worden de in vitro effecten van Prednisolon, Cyclosporine A, en anti-CD4 MAb WW.T4 op genoemde MBP-specifieke klonen beschreven. Prednisolon remde de secretie van IL2 en Interferon- γ , maar had geen invloed op cytotoxische functies. Cyclosporine A en WW.T4 inhbeerden alle geteste in vitro antigeen-specifieke functies van de MBP-specifieke T cel clonen.

In Hoofdstuk 8 wordt de antilichaam kruis-reactiviteit tussen MBP en het CD3 antigeen van T cellen beschreven. Het (muis) monoklonaal antilichaam WW.B1 was oorspronkelijk ontwikkeld tegen humaan MBP en bleek te binden aan het CD3 molecule van humane T cellen. WW.B1 had uitgesproken effecten op T cel functies, zoals inductie van proliferatie en inductie van non-specifieke cytolyse.

In Hoofdstuk 9 worden de experimentele data gerelateerd aan de gegevens uit de internationale literatuur. De gelijkenis tussen de humane cellulaire immuunrespons tegen MBP en de cellulaire anti-MBP respons die klinische EAE in proefdieren veroorzaakt, wordt besproken. Verder wordt het mogelijke belang van de kruis-reactiviteit tussen MBP en CD3 als mechanisme van non-specifieke immuunrespons in het Centraal Zenuw Stelsel benadrukt.